

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.  
8. Jg., S. 41—44, Januar 1970

## Barbital, Körpertemperatur und Proteinsynthese

Von H. KRÖNER und W. STAIB

*Aus dem Institut für Physiologische Chemie der Universität Düsseldorf*

(Eingegangen am 19. August 1969)

Barbital bewirkt bei Ratten einen Abfall der Körpertemperatur, dabei machen sich relativ kleine Unterschiede in der Außentemperatur deutlich bemerkbar. Der Abfall der Körpertemperatur wird ferner beeinflusst vom Ernährungszustand der Tiere und durch Adrenalectomie. Die Auswirkung der erniedrigten Körpertemperatur auf die Proteinsynthese der Leber ist in einem „physiologischen Bereich“ relativ gering. Sie reicht nicht aus zur Erklärung der akuten Hemmung der Proteinsynthese durch Barbital.

### *Barbital, body temperature and protein synthesis*

Barbital causes a decrease in the body temperature of rats, whereby the animals become sensitive to relatively small differences in the external temperature. The fall in temperature is further influenced by the dietary state of the animals and by adrenalectomy. The effect of the lowered body temperature on protein synthesis in the liver is relatively low within a physiological range; it is insufficient to explain the acute inhibition of protein synthesis by barbital.

Barbiturate und zahlreiche andere Pharmaka bewirken langfristig eine Zunahme der Proteinsynthese in der Leber (1, 2, 3). Wie wir in einer früheren Veröffentlichung nachweisen konnten, ist die Proteinsynthese der Leber jedoch kurzfristig nach der Gabe von Barbital gehemmt (4). Zwar fanden wir auch eine Verminderung der RNA-Synthese, jedoch kann diese aus zeitlichen Gründen nicht die alleinige Ursache der Proteinsynthesehemmung sein. Auch eine Störung des Energiestoffwechsels konnten wir als Ursache der Synthesehemmung ausschließen.

Nun haben SHUSTER und HANNAM (5) eine Hemmung der Proteinsynthese in vivo durch Chlorpromazin und auch durch Pentobarbital in Abhängigkeit von der Körpertemperatur beschrieben. Die dort gewählten Bedingungen sind aber so extrem, daß direkte Rückschlüsse für uns nicht möglich waren. Andererseits scheint uns besonders der kurzfristige Einfluß von Barbituraten unter annähernd physiologischen Bedingungen interessant, allein im Hinblick auf die durch Narkose veränderten Reaktionen des Organismus (6).

Wir haben daher nach Gabe von Barbital unter verschiedenen äußeren Bedingungen im „physiologischen Bereich“ bei Ratten die Körpertemperatur gemessen und ferner den Einbau von Leucin-[1-<sup>14</sup>C] in das Leberprotein als Maß für die Proteinsynthese bestimmt. Dabei zeigte sich, daß der Abfall der Körpertemperatur nur zu einem kleinen Teil die Hemmung der Proteinsynthese nach Barbital erklären kann.

### Methodik

Die Versuche wurden an männlichen Wistar-Ratten der Firma Brünger, Bokel, durchgeführt. Die Tiere wogen 200—300 g, sie erhielten Standardfutter der Firma Höveler, Immigrath. Ein Teil der Tiere wurde in leichter Äthernarkose von einem dorsalen Medianschnitt ausgehend doppelseitig adrenalectomiert (7). Die Operation wurde 5—6 Tage vor Versuchsbeginn ausgeführt, in

der Zwischenzeit erhielten diese Tiere 0,9proz. NaCl-Lösung anstelle von Trinkwasser.

Barbital (Veronal), Firma Merck, wurde in Form des Natriumsalzes 1,5proz. in 0,9proz. NaCl-Lösung gelöst. Die Standarddosis 150 mg/kg Ratte wurde intraperitoneal injiziert. Die Kontrolltiere erhielten die entsprechende Menge NaCl-Lösung.

Die Messung der Körpertemperatur erfolgte rektal mit Thermoelementen, deren Genauigkeit gelegentlich mittels Wasserbad bei verschiedenen Temperaturen überprüft wurde. Die Ausgangstemperatur wurde im Ätherrausch gemessen, gleichzeitig erhielten die Tiere die Barbitalinjektion. Anschließend wurde ein Teil der Ratten in Plastikkäfigen mit Streu aus Hobelspänen und einem Deckel aus Drahtgeflecht gebracht. In solchen Behältern wurden die Tiere auch bei früheren Versuchen über die Barbitalwirkung gehalten (4). Die restlichen Tiere wurden in Drahtkäfige gebracht, die ihrerseits in einem 100 cm hohen, 75 cm breiten und 35 cm tiefen Behälter aus durchsichtigem Kunststoff untergebracht waren. Dieser Behälter war beheizbar und mittels Kontaktthermometer auf verschiedene Temperaturen einzustellen. Die Schwankungsbreite der Temperatur im Thermostaten betrug etwa 1°. In dem Behälter wurden maximal 4 Ratten untergebracht.

Zur Messung der Einbauraten von Leucin-[1-<sup>14</sup>C] in das Leberprotein gaben wir 30 Min. vor der Tötung 20 µC markiertes Leucin/kg Ratte in 0,9proz. NaCl-Lösung i. p. Die spezifische Aktivität betrug 7,25 mC/mMol (Fa. Buchler). Die Tiere wurden in Äthernarkose entblutet, die tiefgefrorenen Leberstücke zerkleinert, zweimal mit kalter 0,6N HClO<sub>4</sub> extrahiert, der Rückstand anschließend in 1N NaOH bei Zimmertemperatur gelöst, Einzelheiten siehe (8). Der Proteingehalt wurde mit dem Biuret-reagenz nach WEICHELBAUM (9) bestimmt, Eichsubstanz war Serumalbumin vom Rind, reinst, Behringwerke.

Aus aliquoten Teilen der alkalischen Lösung wurde mit Perchlorsäure das Protein gefällt, einmal mit Perchlorsäure gewaschen, anschließend in Hyamin (Fa. Röhm und Haas) gelöst und mit Diotol (10) als Scintillationsgemisch im Flüssigkeitsszintillationszähler Tri-Carb, Fa. Packard, die <sup>14</sup>C-Aktivität gemessen. Entsprechend, jedoch ohne Zusatz von Hyamin, wurde die <sup>14</sup>C-Aktivität der vereinigten Perchlorsäureextrakte gemessen. Quenckkorrektur erfolgte mittels externen Standards.

### Ergebnisse

Normal ernährte, intakte Ratten, die nach einmaliger Injektion von Barbital-Natrium in einem Plastikkäfig im Laboratorium bei etwa 22° stehenbleiben, zeigen

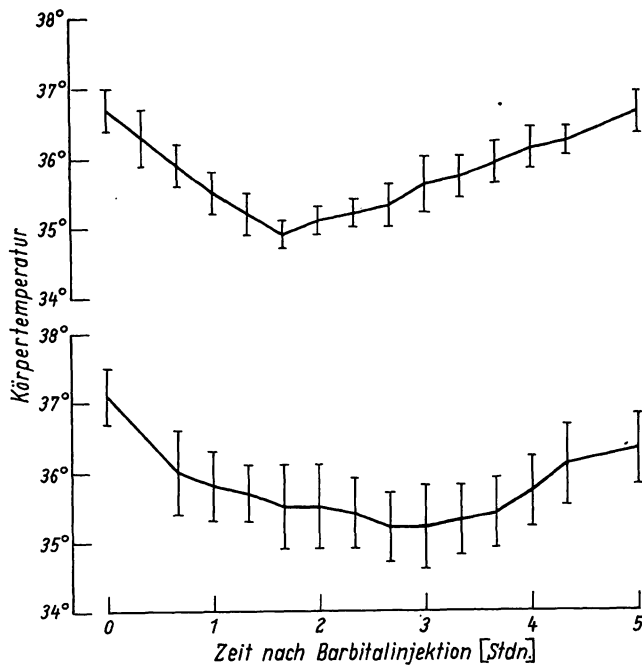


Abb. 1

Körpertemperatur intakter männlicher Ratten nach einmaliger Injektion von Barbitol-Natrium, 150 mg/kg i. p. Obere Kurve: Tiere, die in Drahtkäfigen bei 27° gehalten wurden. Untere Kurve: Tiere bei 22° Raumtemperatur in Plastik Käfigen gehalten. Mittelwert von je 4 Einzelwerten  $\pm$  Standardabweichung

einen Abfall der Körpertemperatur von etwa 1,5–2,0° (Abb. 1). Unter Standardbedingungen im Ganzdrahtkäfig ist der Temperaturabfall gleich groß, wenn die Raumtemperatur 27° beträgt. Auch Versuche an Ratten, die vor der Barbitolinjektion 18 Stdn. gehungert haben (Abb. 3), sowie Messungen an adrenaletomierten Ratten (Abb. 4) bestätigen, daß der Abfall der Körpertemperatur unter den erwähnten Bedingungen etwa gleich groß ist. Ein wesentlicher Unterschied besteht zwischen den Tieren in Plastik Käfigen bei Zimmertemperatur und den Tieren in Ganzdrahtkäfigen bei 27°. Die Streuung ist bei letzteren in allen drei Serien, vor allem in der ersten Phase des Temperaturabfalles deutlich geringer. Bei Ratten, die über Nacht gehungert haben, fällt die Körpertemperatur nach einmaliger Barbitalgabe im Mittel unter den genannten Bedingungen um 3,5° ab, also etwa doppelt so viel, wie bei normal er-

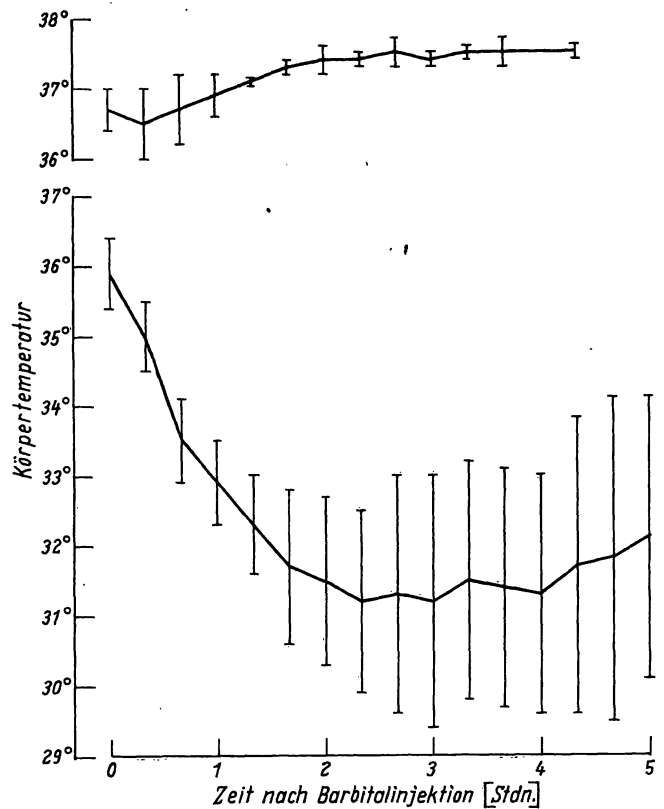


Abb. 2

Körpertemperatur intakter männlicher Ratten nach einmaliger Injektion von Barbitol-Natrium, 150 mg/kg i. p. Obere Kurve: Tiere in Drahtkäfigen bei 32° gehalten, untere Kurve: Tiere in Drahtkäfigen bei 22° gehalten. Mittelwert von je 4 Einzelwerten  $\pm$  Standardabweichung

nährten Tieren. Adrenaletomierte Tiere verhalten sich diesbezüglich ähnlich wie nüchterne; auch hier fällt nach einmaliger Barbitolinjektion die Körpertemperatur um etwa 3° ab, also stärker als bei inktakten Tieren. Das Temperaturminimum liegt bei allen diesen Untersuchungen zwischen 2 und 3 Stdn. nach der Barbitalgabe, nach 5–6 Stdn. ist die Ausgangstemperatur noch nicht wieder erreicht.

Der Abfall der Körpertemperatur nach der Barbitalgabe tritt nicht mehr auf, wenn die Tiere in Ganzdrahtkäfigen bei 32° gehalten werden (Abb. 2 u. 4). Man findet hier vielmehr eine über Stunden dauernde leicht ansteigende Tendenz, besonders bei adrenaletomierten Ratten.

Tab. 1

Einbau von Leucin-[1-<sup>14</sup>C] in das Leberprotein in vivo nach Gaben von Barbitol 150 mg/kg in Abhängigkeit von der Temperatur. Tiere der Serie I und III waren nicht, Tiere der Serie II waren adrenaletomiert. Mittelwert von je 4 Einzelwerten  $\pm$  S

Serie	Behandlung	Proteingebundene <sup>14</sup> C-Aktivität		Säurelösliche <sup>14</sup> C-Aktivität Imp./Min. · g Leber
		Imp./Min. · g Leber	Imp./Min. · mg Protein	
I	Kontrollen	58900 $\pm$ 8600	273 $\pm$ 28	8650 $\pm$ 2480
	1 Std. nach Barbitol 27° Raumtemperatur	32300 $\pm$ 13600++	158 $\pm$ 65++	9950 $\pm$ 1480
	1 Std. nach Barbitol 32° Raumtemperatur	36800 $\pm$ 6900x	162 $\pm$ 30x	9450 $\pm$ 2060
II	Kontrollen	78000 $\pm$ 16000	353 $\pm$ 79	8200 $\pm$ 710
	1 Std. nach Barbitol 27° Raumtemperatur	50500 $\pm$ 6800++	232 $\pm$ 34xx	13250 $\pm$ 1150xx
	1 Std. nach Barbitol 32° Raumtemperatur	58800 $\pm$ 1100	221 $\pm$ 17+	13000 $\pm$ 970xx
III	Kontrollen	69500 $\pm$ 8200	360 $\pm$ 36	4930 $\pm$ 1520
	3 Stdn. nach Barbitol 22° Raumtemperatur	44400 $\pm$ 1950x	211 $\pm$ 13xx	16820 $\pm$ 1960xx
	3 Stdn. nach Barbitol 32° Raumtemperatur	65500 $\pm$ 8200°	294 $\pm$ 34+°	8690 $\pm$ 460xx

+ = p < 0,05    ++ = p < 0,02    x = p < 0,01    xx = p < 0,001 jeweils gegenüber zugehörigen Kontrollen  
° = p < 0,01 22° gegenüber 32°

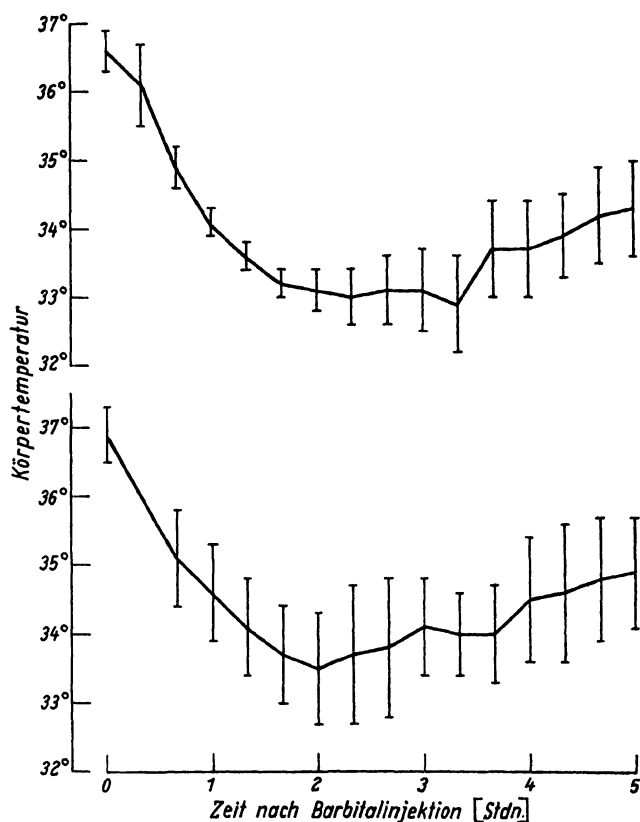


Abb. 3

Körpertemperatur nüchterner Ratten (18 Stunden Hunger) nach einer einmaligen Injektion von Barbitol-Natrium, 150 mg/kg i. p. Obere Kurve: Tiere in Drahtkäfigen bei 27° Raumtemperatur gehalten, untere Kurve: Tiere in Plastik Käfigen bei 22° Raumtemperatur gehalten. Mittelwert von je 4 Einzelwerten  $\pm$  Standardabweichung

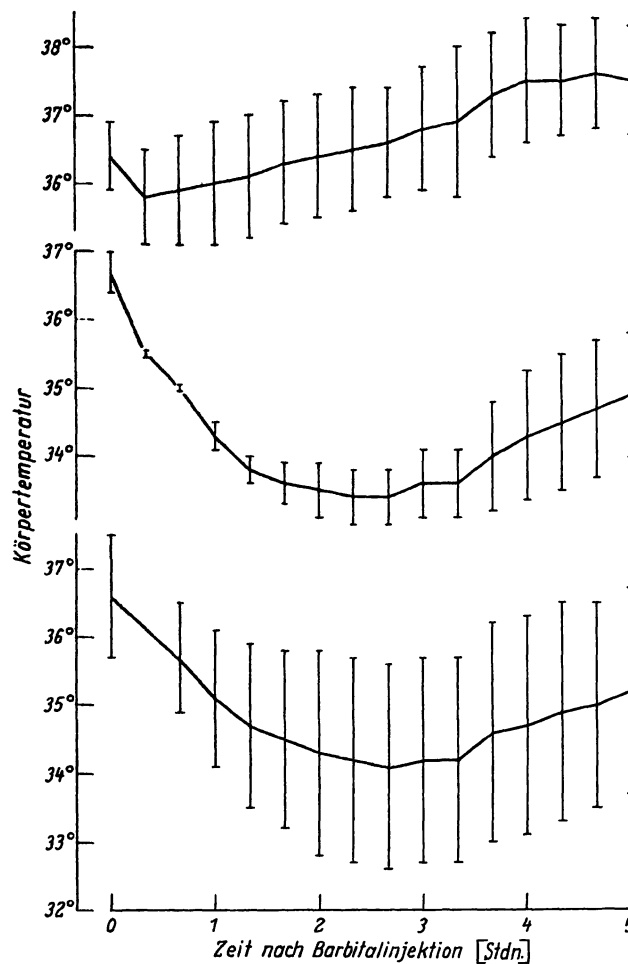


Abb. 4

Körpertemperatur adrenalectomierter Ratten nach einer einmaligen Injektion von Barbitol-Natrium, 150 mg/kg i. p. Obere Kurve: Tiere in Drahtkäfigen bei 32° gehalten, mittlere Kurve: Tiere in Drahtkäfigen bei 27° gehalten, untere Kurve: Tiere bei 22° in Plastik Käfigen gehalten. Mittelwert von 5, 4 und 7 Einzelwerten  $\pm$  Standardabweichung

Werden andererseits die Tiere nach der Barbitolinjektion in Ganzdrahtkäfigen bei 22° gehalten, so kühlen sie erwartungsgemäß stärker aus als bei 27° in Drahtkäfigen oder bei 22° in Plastik Käfigen. Die Differenz der Körpertemperatur beträgt hier im Mittel etwa 4,5° (Abb. 2). Auf den Einbau von Leucin-[1- $^{14}$ C] in das Leberprotein in vivo wirkt sich die kurzfristige Senkung der Körpertemperatur nicht aus. Sowohl intakte als auch adrenalectomierte Tiere bauen 30–60 Min. nach der Barbitolinjektion signifikant weniger Leucin in das Leberprotein ein, gleichgültig, ob die Tiere bei 27° oder bei 32° in Ganzdrahtkäfigen gehalten werden (Tab. 1). Die Hemmung beträgt gegenüber den Kontrollen 35 bis 40%, wenn man die spezifische Aktivität zugrunde legt. Zwischen den bei 27° und den bei 32° gehaltenen Tieren sind sichere Differenzen nicht feststellbar.

3 Std. nach der Barbitolinjektion wird auch dann noch signifikant weniger Leucin-[1- $^{14}$ C] in das Leberprotein eingebaut, wenn die Tiere bei 32° gehalten werden. Demgegenüber findet sich noch eine weitere signifikante Hemmung des Leucineinbaues, wenn die Tiere, die nicht adrenalectomiert sind, statt bei 32° bei 22° in Ganzdrahtkäfigen gehalten werden. Bei einer Raumtemperatur von 32° beträgt die Hemmung etwa 20%, bei 22° Raumtemperatur etwa 40%, wobei die spezifische Aktivität zugrunde gelegt ist. Für die auf Leberfrischgewicht bezogene Aktivität ergeben sich prinzipiell ähnliche Verhältnisse, der Proteingehalt der Leber

ist im Mittel etwas höher, wenn die Tiere nach der Barbitolinjektion bei 32° gehalten werden.

Ähnlich, wie schon früher berichtet (4), verhält sich auch hier die säurelösliche  $^{14}$ C-Aktivität fast reziprok zur  $^{14}$ C-Aktivität im Protein. Im Falle einer Hemmung der Einbaurate steigt die Aktivität des freien Leucin-[1- $^{14}$ C] an, in den meisten Fällen statistisch signifikant. Bei der stärkeren Hemmung der Einbaurate bei 22° Raumtemperatur ist auch der Anstieg der säurelöslichen Aktivität größer als bei 32° Raumtemperatur und einer Einbauhemmung von nur 20%.

### Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen über den Einfluß einer durch Barbitol verursachten Senkung der Körpertemperatur auf die Proteinsynthese der Leber erschienen uns in doppelter Hinsicht interessant. Der Proteinsynthesehemmung durch Barbitol (4) folgt zeitlich eine für Barbitursäurederivate und zahlreiche andere Pharmaka typische Enzyminduktion in der Leber (Übersicht siehe l. c. 11). Entsprechende Veränderungen, nämlich zunächst eine Hemmung der Proteinsynthese, der eine Induktion folgt, sind nach Gabe typischer Hemmstoffe

wie Cycloheximid und Actinomycin D beobachtet worden (12, 13, 14). Für einen diskutierten Kausalzusammenhang zwischen Hemmung der Proteinsynthese und „Induktion“ durch Barbitol (15) muß die Ursache der Synthesehemmung von Bedeutung sein.

Daneben besitzen Barbitursäurederivate als Narkotika ein allgemeines Interesse. So wirkt sich die Hemmung der Proteinsynthese durch Barbitol z. B. auf Enzyminduktionen, die durch Hormone ausgelöst werden, negativ aus (16).

Unterschiedliche Versuchsergebnisse, je nachdem, ob gefütterte, nüchterne oder adrenaletomierte Versuchstiere verwendet werden, brauchen in keinem Kausalzusammenhang mit der Versuchsanordnung zu stehen, sondern können lediglich durch den unterschiedlichen Abfall der Körpertemperatur durch das Narkosemittel bedingt sein. POGGI und PAOLETTI (17) konnten z. B. zeigen, daß die geringere Toxizität von Tetrachlorkohlenstoff bei adrenaletomierten Tieren darauf beruht, daß bei diesen die Körpertemperatur nach  $\text{CCl}_4$  wesentlich stärker abfällt. Da die Toxizität von Tetrachlorkohlenstoff erst nach Metabolisierung desselben entsteht (18), wird bei verlangsamtem Metabolismus aufgrund der erniedrigten Körpertemperatur die Toxizität erniedrigt. Auch in der vorliegenden Untersuchung ist bei einer Temperatur im Thermostaten von  $27^\circ$  der maximale Abfall der Körpertemperatur bei adrenaletomierten

Tieren mit  $3,0^\circ$  im Mittel doppelt so groß wie bei Normaltieren mit  $1,5^\circ$ . 18 Stdn. Nahrungsentzug verstärkt ebenfalls den Abfall der Körpertemperatur, das Minimum liegt hier  $3,5^\circ$  unter dem Ausgangswert.

Durch Anheben der Außentemperatur auf  $32^\circ$  läßt sich der Temperaturabfall nach Barbitolgabe kompensieren (19). Im Gegensatz zu SHUSTER und HANNAM (5) führte eine noch höhere Außentemperatur von  $37^\circ$  bei uns in Vorversuchen zu einem Anstieg der Körpertemperatur der Ratten infolge einer Wärmestauung. Auch den extremen Abfall der Körpertemperatur, den diese Autoren beobachteten, konnten wir durch Barbitolbehandlung nicht reproduzieren, die Tiere starben bei entsprechenden Versuchen.

Wenn Barbitol auch bei „physiologischen“ äußeren Bedingungen einen deutlichen Abfall der Körpertemperatur verursacht, so ist doch dessen Einfluß auf die Proteinsynthese, gemessen am Leucineinbau in vivo, vergleichsweise gering. In der akuten Phase hat der Temperaturabfall überhaupt keinen Einfluß und auch zu einem späteren Zeitpunkt ist eine Hemmung der Proteinsynthese unabhängig von dem Abfall der Körpertemperatur durch Barbitol nachweisbar. Diese von der Körpertemperatur unabhängige Hemmung der Proteinsynthese durch Barbitol bedarf noch einer ursächlichen Klärung.

### Literatur

1. KUNZ, W., G. SCHAUDE, H. SCHIMASSEK, W. SCHMID und M. SIESS, Proc. Europ. Soc. Study Drug Toxicity, Vol. VII, 138 (1966).
2. KATO, R., W. R. JONDORF, L. A. LOEB, T. BEN und H. V. GELBOIN, Mol. Pharmacol. 2, 171 (1966).
3. GELBOIN, H. V., Exper. Med. Suppl. 23, 85 (1963).
4. KRÖNER, H., B. GUTENBERGER, S. HOLLMANN und W. STAIB, diese Z. 7, 8 (1969).
5. SHUSTER, L. und R. V. HANNAM, J. biol. Chemistry 239, 3401 (1964).
6. HOFERT, J. F. und R. K. BOUTWELL, Arch. Biochem. Biophysics 103, 338 (1963).
7. BOMSKOV, CH., Methodik der Hormonforschung, G. Thieme, Leipzig (1937).
8. KRÖNER, H. und W. STAIB, Acta Endocr. K'hvn 59, 193 (1968).
9. WEICHELBAUM, T. E., Amer. J. Clin. Path. 16, 40 (1946).
10. HERBERG, R. J., Analytic. Chem. 32, 42 (1960).
11. CONNEY, A. H., Pharmacol. Rev. Baltimore 19, 317 (1967).
12. JONDORF, W. R., D. C. SIMON und M. ARNIMELECK, Biochem. Biophys. Res. Comm. 22, 644 (1966).
13. ROSEN, F., P. N. RAINA, R. J. MILHOLLAND und CH. A. NICHOL, Science (Washington) 146, 661 (1964).
14. FIALA, S. und E. S. FIALA, Science (Washington) 157, 159 (1967).
15. HOLLMANN, S. und J. NEUBAUER, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 877 (1967).
16. KRÖNER, H., B. GUTENBERGER, H. BOJAR, S. HOLLMANN und W. STAIB, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. exp. Path. 263, 231 (1969).
17. POGGI, M. und R. PAOLETTI, Biochem. Pharmacol. 13, 949 (1964).
18. RECKNAGEL, R. O., Pharmacol. Rev. Baltimore 19, 145 (1967).
19. LESSIN, A. W. und M. W. PARKES, Brit. J. Pharmacol. 12, 245 (1957).

Prof. Dr. W. Staib  
4000 Düsseldorf 1  
Witzelstr. 111